昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, September 2017, 60(9): 1083 - 1092 doi:10.16380/j.kcxb.2017.09.012

基于 mtDNA COI 基因的甘肃截形叶螨不同地理种群遗传分化分析

杨顺义#, 周兴隆#, 宋丽雯, 严晓彤, 张小云, 张新虎, 沈慧敏*

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘要:【目的】探讨甘肃截形叶螨 *Tetranychus truncatus* 种群遗传多样性、遗传分化及种群系统发育关系。【方法】本研究以 2016 年 6 - 9 月采自甘肃省 8 个不同生境的 34 个截形叶螨种群的 518 头螨样品进行 mtDNA COI 基因 PCR 扩增、测序,并利用 MEGA7.0 和 Dna SP5.0 等软件分析截形叶螨不同种群的 mtDNA COI 基因序列变异和遗传分化情况。【结果】在 34 个截形叶螨地理种群中共获得 518 条 mtDNA COI 基因片段,测定片段长度为 402 bp, T, C, A 和 G 碱基平均含量分别为 43.2%, 10.5%, 32.2% 和 14.0%, A + T 含量(75.4%)明显高于 C + G 含量(24.6%),有明显的 A/T 偏倚性;核酸多样性性指数为 0.0328。共检出 12 个单倍型,单倍型指数为 0.8004,其中,H2 出现了 14 次,分布于 5 个生态区域,为主体单倍型,占个体样本的 41%。单倍型网络中介图表明各单倍型明显聚为 5 个聚类簇;12 个单倍型的 NJ 系统发育树明显地分为 4 支,该结果与单倍型中介网络图的结果基本一致。各种群间的遗传距离在 0.001 ~ 0.08955 之间。UPGMA 聚类图结果表明 JQ(酒泉)种群和 HS(合水)种群与其他种群相比分化明显。Mantel 检测结果表明,种群间的遗传距离与地理距离无显著的相关性($r = 0.043$, $P > 0.05$)。34 个种群间的遗传分化指数 *Fst* 为 0.11995,种群间变异比例为 1.20%。【结论】甘肃省 8 个生态区的 34 个截形叶螨种群间的遗传距离与地理距离无显著相关性;截形叶螨的遗传变异主要来自于种群内部,种群间还未发生明显的遗传分化现象。

关键词: 截形叶螨; mtDNA COI; 种群遗传; 地理种群; 遗传分化; 甘肃

中图分类号: Q966 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2017)09-1083-10

Analysis of genetic differentiation among different geographic populations of *Tetranychus truncatus* (Acari: Tetranychidae) in Gansu province, northwestern China based on mtDNA COI gene

YANG Shun-Yi#, ZHOU Xing-Long#, SONG Li-Wen, YAN Xiao-Tong, ZHANG Xiao-Yun, ZHANG Xin-Hu, SHEN Hui-Min* (Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract:【Aim】This study aims to explore the genetic diversity, genetic differentiation and phylogenesis of *Tetranychus truncatus* populations in Gansu province, northwestern China.【Methods】The mtDNA COI gene in 518 individual samples of *T. truncatus*, which were collected from 34 populations in 8 different habitats of Gansu province from June to September in 2016, was amplified, sequenced and analyzed. And its sequence variation and genetic differentiation were analyzed using MEGA 7.0, Dna SP 5.0 and other software.【Results】The sequenced fragment is 402 bp in length. The average contents of A, T, C and G are 32.2%, 43.2%, 10.5%, 14.0%, respectively. The A + T content (75.4%) was apparently higher than the G + C content (24.6%), with an obvious A/T bias,

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260442); 国家公益性行业(农业)科研专项(201103020)

作者简介: 杨顺义, 男, 1978 年 10 月生, 甘肃陇南人, 博士, 副教授, 研究方向为害虫(螨)抗药性研究, E-mail: yangshy@gsau.edu.cn; 周兴隆, 男, 1985 年 6 月生, 甘肃定西人, 硕士, 研究方向为害虫(螨)抗药性研究, E-mail: zhouxl94@163.com

#共同第一作者 Authors with equal contribution

*通讯作者 Corresponding author, E-mail: ndshm@gsau.edu.cn

收稿日期 Received: 2017-04-09; 接受日期 Accepted: 2017-07-30

and the nucleic acid diversity was 0.0328. There were 12 haplotypes in 34 populations, and the haploid type index was 0.8004. In 12 haplotypes, H2 occurred in the highest number of individuals, which was distributed in 5 ecoregions, appeared 14 times, and occupied 41% in the number of individuals. Five cluster groups were clustered together in the haplotype mediation network diagram. NJ phylogenetic tree showed that 12 haplotypes were divided into four branches, and this result was the same as that of the mediation network diagram. Genetic distance of all the populations was among 0.001 - 0.08955. UPGMA dendrogram showed that JQ (Jiuquan) population and HS (Heshui) population had higber genetic differentiation with other populations. Mantel test result showed no significant correlation between genetic distance and geographical distance ($r = 0.043$, $P > 0.05$). The genetic differentiation index (Fst) among 34 populations was 0.11995, and the variation proportion among populations was 1.20%. 【Conclusion】There is no significant correlation between genetic distance and geographical distance among 34 populations of *T. truncatus* in eight ecoregions of Gansu province. The genetic variation of *T. truncatus* is mainly within populations, and there is no obvious genetic differentiation among populations.

Key words: *Tetranychus truncatus*; mtDNA COI; population genetic; geographical population; genetic differentiation; Gansu

截形叶螨 *Tetranychus truncatus* Ehara 属蜱螨亚纲(Acarina)叶螨科(Tetranychidae),主要为害玉米、棉花、大豆、蔬菜和果树等,是一种重要的农业害螨。该螨危害严重,是我国北方玉米和蔬菜田的优势种群(王玲等, 2016)。截形叶螨以幼、若螨和成螨刺吸植物汁液为生,可使叶片出现失绿小斑点、继而枯黄,严重时可使整株枯死(Gorman *et al*., 2002),严重影响作物生产,降低蔬菜的产量和品质,是公认最难防治的有害生物之一(洪晓月, 2012; 洪晓月等, 2013)。

线粒体细胞色素氧化酶亚基 I(mtCOI)基因(mtDNA COI)具有分子结构简单、严格的母系遗传、极小的重组几率、与核基因无共同序列、进化速率快、多拷贝、易于操作、序列和组成一般比较保守及碱基替换率低等一系列特点,常被作为分子标记手段,用来确定品种间母系起源的遗传关系(Skibinski *et al*., 1994)。DNA 条形码(Hebert *et al*., 2003)概念被提出以来受到生物分类学领域普遍关注,mtDNA COI 被用作动物类群的主要条形码序列,基于该基因片段的昆虫条形码研究在国内外广泛开展(杨倩倩等, 2012)。由于其分布的普遍性、序列和结构的相对保守性而被广泛应用于不同分类阶元层次上的分子系统学研究(Gray, 1989; Moritz *et al*., 2003)。例如,Navajas 等(1996; 1999)应用 mtDNA COI 序列研究了叶螨科的种内变异。Toda 等(2000)基于 mtDNA COI 基因研究了柑橘全爪螨 *Panonychus citri* 种间遗传分化。Hinomoto 等(2001)研究了二斑叶螨 *Tetranychus urticae* koch 绿色型和红色型的 mtDNA COI 基因序列的同源性。谢霖(2006)基于 mtDNA COI 基因研究发现,中国 13 个二斑叶螨种群中新疆种群与其余 12 个种群亲缘关系较远,和地中海种群亲缘关系较近,因而新疆种群可能由地中海地区传入。Ros 和 Breeuwer (2007)基于 mtDNA COI 基因研究表明,二斑叶螨、神泽叶螨 *Tetranychus Kanzawai* Kishida 和截形叶螨各形成一个种内变异很大的进化分支,很可能是由于共生菌引起的。

近年来,截形叶螨已上升为甘肃省主要的害螨,广泛分布于全省。随着甘肃省双垄沟玉米和制种玉米面积逐年扩大,其成为玉米生产中的主要害螨之一,严重影响了制种和大田玉米的产量和质量(郑开福, 2013)。本研究采用 mtDNA COI 基因作为分子标记,通过对甘肃省 8 个不同生境截形叶螨的 34 个种群的种群遗传结构和变异进行研究,从分子遗传学的角度剖析甘肃截形叶螨不同种群的种内遗传及种群遗传分化,以期为明确甘肃截形叶螨不同种群间的系统发育及进化关系提供全面完整的遗传学证据,进而为该螨的区域性发生规律研究和防治策略制定等提供分子生物学基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试截形叶螨于 2016 年 6 - 9 月采自甘肃省 8 个流域的 34 个市县,共计 34 个种群 518 头螨,单头螨短期保存于装有无水乙醇的干净的 1.5 mL 离心管中,采样信息见表 1。

表 1　甘肃截形叶螨采样信息

Table 1　Sampling data of *Tetranychus truncatus* in Gansu

生态区域 Ecoregion	采样地点 Sampling site	种群代码 Population code	纬度 Latitude	经度 Longitude	海拔(m) Altitude	寄主植物 Host plants
疏勒河 ShuLe River	敦煌 Dunhuang	DH	40°9′N	94°42′E	1 144	玉米,棉花,梨,苹果,苦苣菜 Corn, cotton, pear, apple, endive
	瓜州 Guazhou	GZ	40°29′N	95°46′E	1 115	西红柿,菜豆,啤酒花 Tomato, kidney bean, hops
	玉门 Yumen	YM	40°17′N	97°4′E	1 335	西瓜 Watermelon
黑河 Hei River	嘉峪关 Jiayuguan	JYG	39°48′N	98°13′E	1 678	丁香, 辣椒, 小檗, 红叶小檗 Clove, pepper, barberry, holly hock
	酒泉 Jiuquan	JQ	39°46′N	98°21′E	1 527	小檗,玉米 Barberry, corn
	山丹 Shandan	SD	38°49′N	101°2′E	1 783	南瓜,大豆 Pimpkin, soybean
	临泽 Linze	LZ	39°9′N	100°7′E	1 448	西红柿,玉米,枣,菜豆,小檗,苹果 Tomato, corn, jujube, kidney bean, barberry, apple
	高台 Gaotai	GT	39°45′N	99°29′E	1 281	玉米,西瓜 Corn, watermelon
	张掖 Zhangye	ZY	38°59′N	100°26′E	1 490	玉米,向日葵,大豆 Corn, sunflower, soybean
石羊河 ShiYang River	金昌 Jinchang	JC	38°27′N	102°11′E	1 607	西红柿,茄子,菜豆,小檗,南瓜 Tomato, eggplant, kidney bean, barberry, pumpkin
	武威 Wuwei	WW	37°54′N	102°38′E	1 519	苹果,苦苣,玉米,菜豆 Apple, endive, corn, kidney bean
	古浪 Gulang	GL	37°29′N	102°54′E	2 049	玉米,苹果,李子,大豆 Apple, corn, plum, soybean
黄河 Huang River	景泰 Jingtai	JT	37°10′N	103°58′E	1 702	玉米 Corn
	靖远 Jingyuan	JY	36°34′N	104°39′E	1 384	茄子,苹果,玉米 Eggplant, apple, corn
	白银 Baiyin	BY	36°34′N	104°39′E	1 379	茄子,辣椒,玉米 Eggplant, pepper, corn
	红古 Honggu	HG	36°09′N	103°25′E	1 565	玉米,大豆,菜豆 Corn, soybean, kidney bean
	榆中 Yuzhong	YZ	35°53′N	104°4′E	2 024	茄子,大豆,苹果,玉米,黄瓜 Eggplant, soybean, apple, corn, cucumber
	定西 Dingxi	DX	35°28′N	104°29′E	2 004	葫芦 Calabash
	刘家峡 Liujiaxia	LJX	35°57′N	103°15′E	1 621	草莓,黄瓜,苹果 Strawberry, cucumber, apple
洮河 Tao River	临夏 Linxia	LX	35°37′N	103°13′E	1 379	茄子,菜豆 Eggplant, kidney bean
	临洮 Lintao	LT	35°23′N	103°51′E	1 901	玉米,菜豆,洋姜,毛桃,马铃薯,萝卜 Corn, kidney bean, Jerusalem artichoke, wild peach, potato, radish
渭河 Wei River	通渭 Tongwei	TW	35°11′N	105°15′E	1 750	玉米,茄子 Corn, eggplant
	武山 Wushan	WS	34°45′N	105°1′E	1 367	西瓜,玉米,桑树,藜,龙葵 Watermelon, corn, mulberry, goosefoot, nightshade
	天水 Tianshui	TS	34°33′N	105°51′E	1 183	玉米,茄子,黄瓜,苹果 Corn, eggplant, cucumber, apple
	静宁 Jingning	JN	35°31′N	105°42′E	1 628	苹果,玉米,黄瓜,向日葵,草莓 Apple, corn, cucumber, sunflower, strawberry
	庄浪 Zhuanglang	ZL	35°11′N	106°2′E	1 572	茄子,玉米,辣椒,苹果 Eggplant, corn, pepper, apple
嘉陵江 Chia-ling River	宕昌 Tanchang	TC	34°1′N	104°23′E	1 726	玉米,桃,大豆 Corn, peach, soybean
	文县 Wenxian	WX	32° 55′N	104°37′E	1 096	桃,大豆,菜豆,向日葵,茄子 Peach, soybean, kidney bean, sunflower, eggplant
	徽县 Huixian	HX	33°50′N	105°58′E	1 081	玉米,西红柿,大豆,茄子 Corn, tomato, soybean, eggplant
泾河 Jing River	平凉 Pingliang	PL	35°34′N	106°37′E	1 353	苹果 Apple
	灵台 Lingtai	LT	35°7′N	107°31′E	1 303	苹果,杨树 Apple, aspen
	西峰 Xifeng	XF	35°43′N	107°42′E	1 301	苹果,桃,菜豆,糜子 Apple, peach, kidney bean, proso
	合水 Heshui	HS	35°51′N	107°59′E	1 234	苹果 Apple
	庆城 Qingcheng	QC	36°6′N	107°53′E	1 031	苹果,杏,桃,玉米 Apple, apricot, peach, corn

1.2 供试试剂

STE 缓冲液(含 100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl 和 1 mmol/L EDTA, pH 8.0),蛋白酶 K(10 mg/mL)。

1.3 截形叶螨基因组 DNA 的提取

DNA 的提取参考 Gomi 等(1997)的方法,并加以改进。具体操作如下:向事先编号的 1.5 mL 离心管内分别加入 25 μL STE 缓冲液(含 100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCL, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0)然后分别将离心管置于冰上;在显微镜下挑取新鲜单头雌成螨放入离心管内,立即用塑料研磨棒研磨;研磨后将离心管置于冰上;向离心管内加入 2 μL 蛋白酶 K(10 mg/mL);简单离心后,于 37℃下孵育 30 min; 95℃初始变性 5 min; −20℃条件保存。

1.4 截形叶螨 mtDNA COI 基因 PCR 扩增和测序

使用一对特异性引物(Navajas *et al.*, 1996)从截形叶螨线粒体 DNA 的 COI 基因中扩增出一段 402 bp 的片段。上游引物为:5′-TGATTTTTTGGTCACCCAGAAG-3′;下游引物为:5′-TACAGCTCCTATAGATAAAAC-3′。引物由上海生工生物有限公司合成。

PCR 反应体系 50 μL:DNA 模板 4 μL, ddH_2O 28.6 μL, 10 倍 buffer 5 μL, $MgCl_2$(25 mmol/L)5 μL, dNTPs(各种浓度均为 10 mmol/L)4 μL, TaqDNA 聚合酶(5 U/μm)0.4 μL,上下游引物(10 μmol/L)各 1.5 μL。

PCR 反应程序:94℃预变性 5 min; 94℃ 30 s, 51℃ 1 min, 72℃ 1 min,共 35 个循环;总延伸 10 min, 4℃保存。取 PCR 反应产物 5~9 μL,在 1.0%(m/V)的琼脂糖凝胶上以 60 V 电压电泳 30 min,最后在 Gel Doc EQ 凝胶成像系统(Bio-Rad)下观察拍照。确定扩增成功后的 PCR 产物上海生工生物有限公司测序。

1.5 数据比对及分析

将测序所得的 34 个截形叶螨种群 mtDNA COI 序列用 EditSeq 软件读取并观察峰值,通过 MEGA 7.0 软件中的 ClustalW 进行多重序列比对,去除序列两端测序误差较大的区域,将处理后的序列在 NCBI 网站上进行 blast 比对、确认;应用 MEGA 7.0 软件分析碱基组成、保守位点、变异位点、简约信息位点、转换和颠换碱基对数并计算单倍型间的遗传距离;以加州钝绥螨 *Neoseiulus californicus*(GenBank 登录号: KP642059.1)作为外群,采用邻接法(NJ)构建甘肃截形叶螨不同种群的单倍型聚类树,并对各分支的置信度自展法进行 1 000 次重复检验;采用不加权配对算数法(UPGMA)以不同种群间遗传距离矩阵构建其系统发育树;利用 DnaSP5.0 软件分析 34 个种群内 mtDNA COI 基因序列单倍型数目和出现的频率;采用 NetWork 4.0 程序构建单倍型的中介网络图;依据经纬度计算各采集地之间的地理距离,使用 Arlequin 3.5 软件中的 Mantel Test 检验不同种群间遗传距离与地理距离自然对数值的相关性,并计算群体间的分化指数(*Fst*)和进行分子方差分析。

2 结果

2.1 截形叶螨种群中 mtDNA COI 序列变异及遗传多态性分析

测定了甘肃省 8 个生态区 34 个截形叶螨种群的 518 条 mtDNA COI 基因序列(GenBank 登录号: MG231428 – MG231439),测定片段长度为 402 bp,满足生物信息分析的需要,其中保守序列 348 个,变异位点 54 个,简约信息位点 33 个,单突变位点 21 个,转换与颠换比值为 1.02,碱基 T, C, A 和 G 平均含量分别为43.2%, 10.5%, 32.2%和14.0%,A+T 含量(75.4%)明显高于 C+G 含量(24.6%),有明显的 A/T 偏倚性,符合昆虫线粒体基因序列碱基组成特点;核酸多样性性指数为 0.0328。共检出 12 个单倍型,单倍型指数为 0.8004。各生态区截形叶螨单倍型数量及分布见表 2,12 个单倍型中,H2 包含的个体数最多,共出现 14 次,分布于 5 个生态区域,为主体单倍型,占个体样本的 41%;其次为 H1 和 H3,分别出现 5 次,占个体样本的 15%;H6 出现 2 次,占个体样本的 5.9%;其余单倍型各出现 1 次。

2.2 单倍型间的发生关系

构建基于 mtDNA COI 基因的截形叶螨各单倍型网络中介图(图 1),各单倍型明显聚为 5 个聚类簇,H1, H2, H7, H10 和 H11 5 种单倍型聚为一簇;H3, H6 和 H9 3 种单倍型聚为一簇;H4 和 H12 2 种单倍型聚为一簇;H5 和 H8 单独成一支。其中,H1, H2 和 H3 为主体单倍型,出现频率分别为 5, 14 和 5 次。

为进一步研究甘肃截形叶螨种群的遗传关系,以加州钝绥螨作为外群构建基于 mtDNA COI 单倍型的 NJ 系统发育树(图 2),结果表明,34 个种群的 12 个单倍型明显地分为 4 支,将这 4 个类群分别定

义为单倍型类群 A，B，C 和 D，类群 A 含有 7 种单倍型，分别为 H1，H2，H7，H10，H11，H4 和 H12；类群 B 含有 1 种单倍型，为 H8；类群 C 中含有 1 种单倍型，为 H5；类群 D 含有 3 种单倍型，分别为 H3，H6 和 H9。该结果与单倍型中介网络图的结果基本一致。

表 2　甘肃各生态区截形叶螨种群单倍型

Table 2　Haplotypes of *Tetranychus truncates* populations in ecoregions of Gansu

生态区域 Ecoregion	种群 Population	单倍型 Haplotypes												
		H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	合计 Total
疏勒河 Shule River	3	2	1											3
黑河 Hei River	6		2	1	1				1			1		6
石羊河 Shiyang River	3	1		2										3
黄河 Huang River	8	2	5	1										8
渭河 Wei River	5		4					1						5
洮河 Tao River	1		1											1
泾河 Jing River	5		1	1		1				1	1			5
嘉陵江 Chia-ling River	3						2						1	3
合计 Total	34	5	14	5	1	1	2	1	1	1	1	1	1	
分布比例(%) Distribution proportion	100	15	41	15	2.9	2.9	5.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	

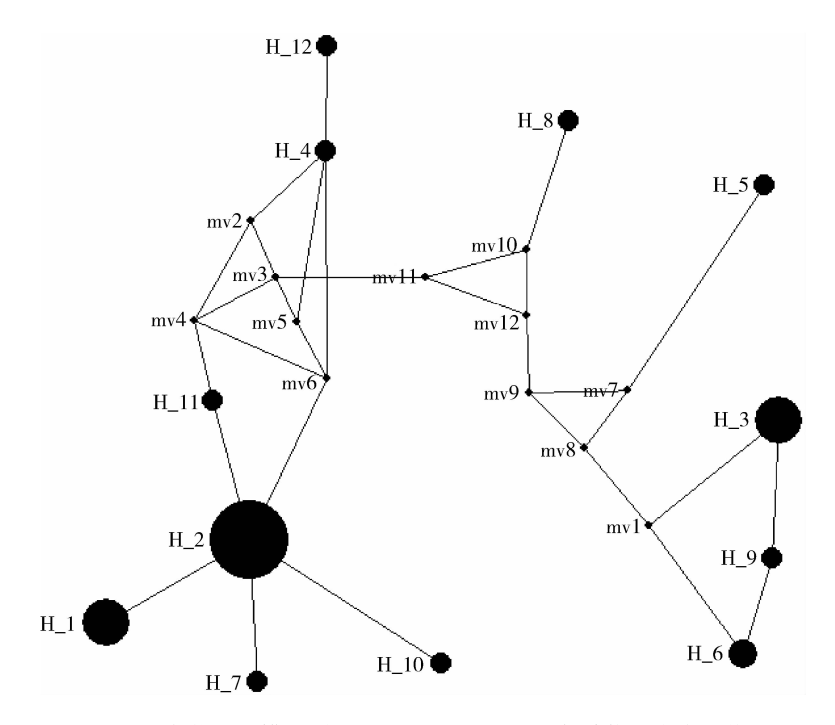


图 1　甘肃截形叶螨不同种群 mtDNA COI 基因各单倍型中介网络图

Fig. 1　Median-joining network of haplotypes based on mtDNA COI gene in *Tetranychus truncates* populations in Gansu

H1 – H12：截形叶螨不同种群单倍型 Haplotypes in *Tetranychus truncates* populations. 下同 The same below. 图中每个圆圈表示一种单倍型，圆圈的大小与其单倍型频率成正比，黑色方块表示可能存在变异位点，mv1 – mv12 表示可能突变的位点。A circle means a haplotype, the circle area means the frequency in a haplotype, the black squares mean the potential mutation site, and mv1 – mv12 mean possible mutational sites.

2.3　截形叶螨不同种群 mtDNA COI 基因碱基替换饱和性分析

以 *P*-distance 值（转换 + 颠换）为横轴，转换（Ts）和颠换（Tv）为纵轴作图，分析 COI 基因替换是否达到饱和，结果表明：Ts 和 Tv 具有线性增长的关系，说明 2 者均未饱和，可以进行建树分析（图 3）。

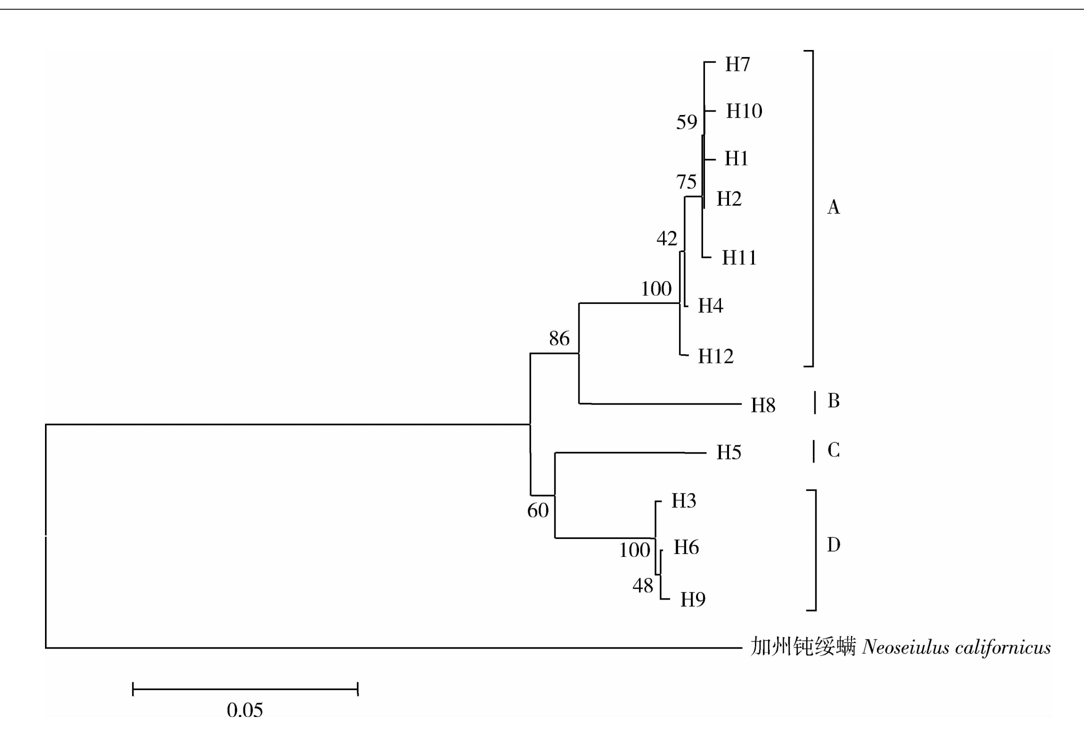


图 2 邻接法构建甘肃截形叶螨不同种群 mtDNA COI 基因单倍型系统树(1 000 次重复)

Fig. 2 Haplotypes phylogenetic tree of mtDNA COI gene of *Tetranychus truncates* populations in Gansu using neighbor-joining method (1 000 replicates)

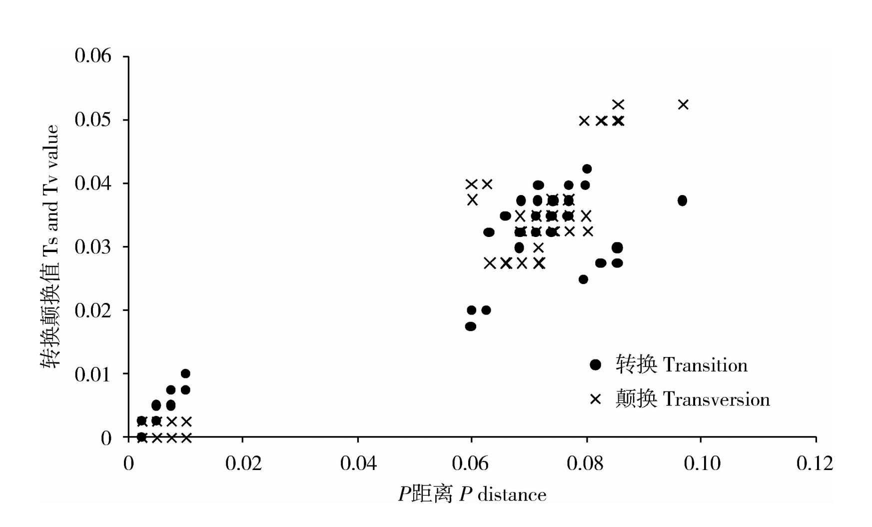


图 3 甘肃截形叶螨不同种群 mtDNA COI 基因碱基替换饱和性分析

Fig. 3 Analysis of base-pair substituting saturability of mtDNA COI gene of *Tetranychus truncates* populations in Gansu

2.4 截形叶螨不同种群遗传距离分析

以甘肃截形叶螨各种群间的遗传距离构建其 UPGMA 聚类图(图 4),各种群间的遗传距离在 0.001 ~0.08955 之间。34 个种群聚为 4 支,其中,有 24 个种群聚为一支,其遗传关系较近,遗传距离为 0.002,分布在 8 个生态区;有 8 个种群聚为一支,遗传关系较近,遗传距离为 0.002,分布在 5 个生态区;JQ(酒泉)种群和 HS(合水)单独成支。对遗传距离与地理距离的相关性进行 Mantel 检测,结果显示,相关系数 $r = 0.043$ ($P > 0.05$),表明种群间的遗传距离与地理距离无显著相关性。

2.5 截形叶螨不同种群的遗传分化

Arlequin v3.5 软件分析结果显示,截形叶螨各种群间的遗传分化指数为 -1.00000 ~0.49924,种群间的遗传分化指数 *Fst* 为负值或很小(表 3),表明各群体间未出现遗传分化。对各种群间进行 Amova 分析(表 4),结果显示,34 个种群间的遗传分化指数 $Fst = 0.11995$,种群间变异为1.20,说明

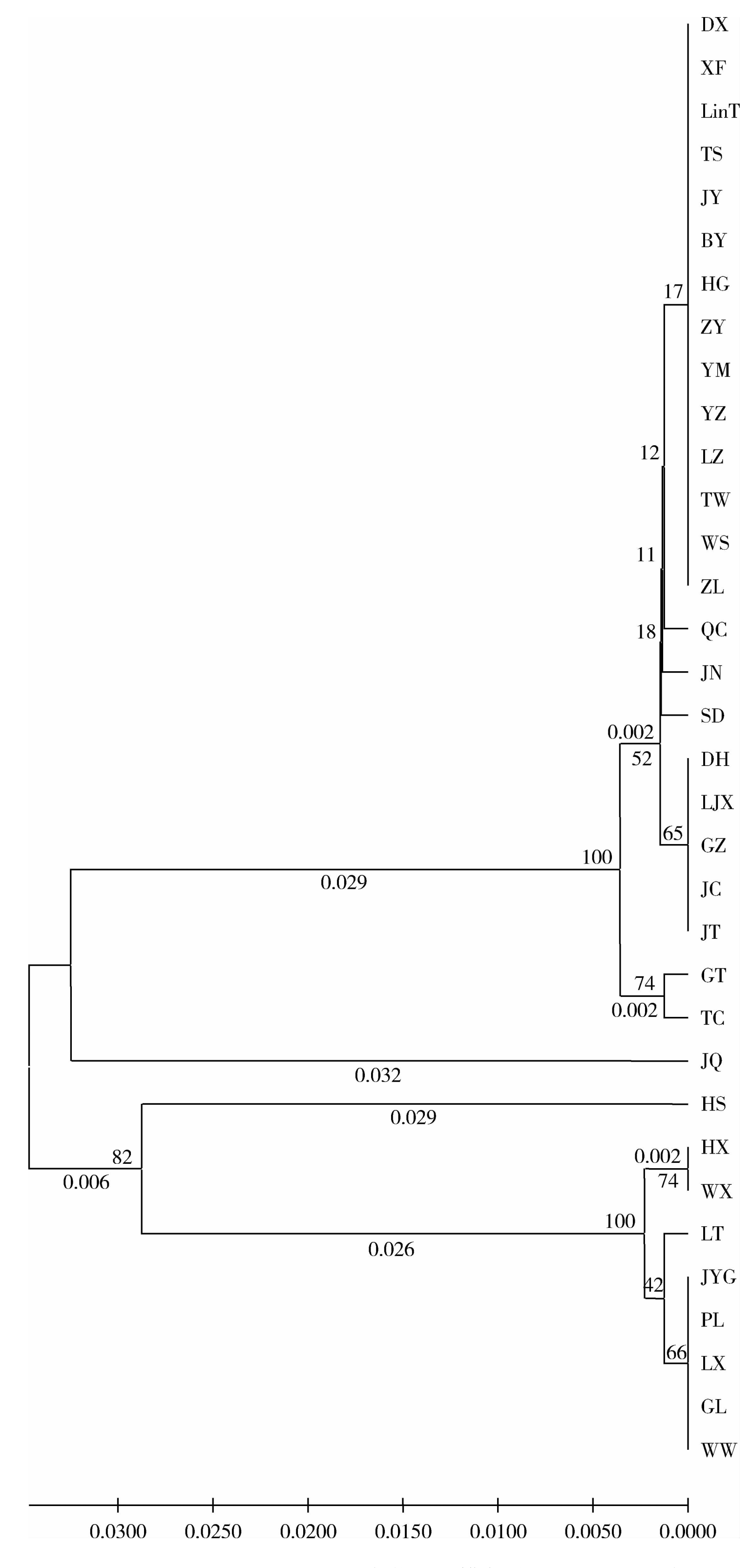


图 4　基于 mtDNA COI 基因甘肃截形叶螨各种群 UPGMA 聚类图

Fig. 4　UPGMA dendrogram of mtDNA COI gene of *Tetranychus truncatus* populations in Gansu

种群代码见表 1。For population codes, see Table 1.

表 3 甘肃截形叶螨不同生态区种群间的遗传分化指数

Table 3 The *Fst* value among populations of *Tetranychus truncatus* in different ecoregions of Gansu

	疏勒河 Shule River	黑河 Hei River	石羊河 Shiyang River	黄河 Huang River	渭河 Wei River	洮河 Tao River	泾河 Jing River	嘉陵江 Chia-ling River
疏勒河 Shule River	0.00000							
黑河 Hei River	0.06897	0.00000						
石羊河 Shiyang River	-0.20000	0.12195	0.00000					
黄河 Huang River	-0.00815	0.01060	0.20671	0.00000				
渭河 Wei River	0.31106	0.03259	0.49924	-0.02317	0.00000			
洮河 Tao River	0.00000	-0.40000	0.33333	-0.61905	-1.00000	0.00000		
泾河 Jing River	0.07692	-0.07290	0.07692	0.07692	0.16667	-0.25000	0.00000	
嘉陵江 Chia-ling River	0.33333	0.16923	0.33333	0.37359	0.49924	0.33333	0.13669	0.00000

表 4 截形叶螨各种群间的分子方差分析

Table 4 Analysis of molecular variance among *Tetranychus truncatus* populations

变异来源 Source of variation	自由度 *df*	平方和 Sum of squares	变异组成 Variance components	变异比例(%) Variation proportion
种群间 Among populations	7	3.889	0.00486	1.20
种群内 Within populations	26	9.258	0.39976	98.80
总变异 Total	33	13.147	0.40462	
遗传分化指数 *Fst* = 0.11995				

截形叶螨的遗传变异主要来自于种群内部,种群间还未发生明显的遗传分化现象。

3 结论与讨论

mtDNA 是真核细胞中的一种雌性中介的基因流,呈母系遗传,因而是研究母系基因流、物种起源分化遗传变异、生物种群亲缘关系、种和亚种的系统发育分析及种群之间系统关系的分子工具(李国庆, 2010; 常雪莲等, 2015)。本文以 mtDNA COI 基因为工具,研究了甘肃省 8 个不同气候类型生态区的 34 个截形叶螨种群间的遗传关系,结果显示,在 34 个种群中检测到 12 个单倍型,具有丰富的群体内部的遗传多样性;34 个种群的遗传分化指数 *Fst* = 0.11995,种群间变异为 1.20,说明截形叶螨的遗传变异主要来自于种群内部,种群间还未发生明显的遗传分化现象。然而,嘉陵江流域与其他各流域种群间的遗传分化指数均较大,达到 0.13669 以上;渭河流域种群与疏勒河流域及石羊河流域种群间的遗传分化指数达到 0.31106 和 0.49924;洮河流域与石羊河流域遗传分化指数为 0.33333。

这可能与甘肃省的地理环境有关。甘肃省境内地形复杂,高山、盆地、平川、沙漠和戈壁等兼而有之,且海拔相差悬殊;气候类型丰富,从东南到西北包括了亚热带湿润区到高寒区、干旱区与半干旱区的各种气候类型;气温昼夜温差大,光照充足,太阳辐射强烈。这些因素都有可能使得截形叶螨种群间因地理隔离而产生分化现象。本文结果表明除嘉陵江流域、渭河流域、洮河流域种群分化指数较大外,其他流域种群间未出现遗传分化。可能原因如下:1)寄主植物的种植模式及种植结构的变化对截形叶螨的影响;甘肃省由于气候类型及降雨量的差异,种植模式及种植结构有很大的差异,主要体现在:河西地区,玉米和棉花种植范围和规模扩张趋势明显;中部地区,小麦面积逐年缩小,玉米和马铃薯种植逐渐形成规模;东南部地区,小麦面积逐年缩小,玉米和其他喜温的作物种植比例逐年上升(王鹤龄等, 2012)。从采样地寄主植物情况来看,玉米等植物种植范围的扩大对截形叶螨的取食、交配、产卵及迁移扩散有积极意义。2)温度对截形叶螨生长发育的影响;截形叶螨的发育速率受制于温度,发育速率又极大地影响其种群的增长速度率,超过其最适温度,生长受到明显抑制(吴蕾, 2010),种群数量急剧下降(全国农业技术推广服务中心, 2014)。在河西的沙漠地区(石羊河流域),夏季高温不仅使截形叶螨体内的水分会加快散失,影响其正常的生理代谢,

而且还会改变其体内代谢途径，而对螨体造成伤害。同时，截形叶螨会启动热响应机制以适应高温环境，并将其遗传给后代，可能在后代中产生较大的分化。3)环境湿度的变化直接导致截形叶螨体内含水量的变化，从而打破螨体内的水分平衡，而对其个体发育及群体发生等产生影响。在本研究中，嘉陵江流域较其他流域环境湿度大，可能导致其分化指数增大。4)光周期、光照强度等可影响截形叶螨的生活节律，还能影响其生长发育、迁移、羽化、交配等。5)紫外胁迫可导致截形叶螨蛋白生理功能与结构的改变以及 DNA 的改变，也可改变植物 DNA，进而改变植物形态等间接影响截形叶螨（都二霞等，2006；徐建祥等，2006）。

此外，*Wolbachia* 感染类型与截形叶螨线粒体单倍型分布存在显著的相关性（张艳凯，2014）。*Wolbachia* 感染截形叶螨后能够影响其种群遗传结构及遗传多样性（Zhang *et al*., 2013；Chen *et al*., 2016），即 *Wolbachia* 可随母系遗传，当截形叶螨种群感染 *Wolbachia* 后，*Wolbachia* 对截形叶螨的生殖有调控作用，在截形叶螨特定种群中，与 *Wolbachia* 相关联的 mtDNA 单倍型成为优势单倍型，逐渐取代其他单倍型（Dean *et al*., 2003；Jiggins，2003）。但是，由于甘肃省丰富的气候类型，可能形成了不同的 *Wolbachia* 株系，或者造成了 *Wolbachia* 对不同的生境下的截形叶螨种群调控能力的差异，并对宿主种群的影响不同。并且，当同一种群同时感染两种或两种以上的 *Wolbachia* 株系时，宿主种群的 mtDNA 多样性可能降低（Hurst and Jiggins，2005），这与本文种群间还未发生明显的遗传分化现象结果一致。

参考文献（References）

Chang XL，Zhong DB，Li XC，Huang YM，Zhu GD，Wei X，Xia H，Chen XG，Fang Q，2015. Analysis of population genetic structure of *Anopheles sinensis* based on mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I gene fragment. *J. South. Med. Univ*., 35(2)：234－238.［常雪莲，钟代斌，李小聪，黄亚铭，朱国鼎，魏星，夏惠，陈晓光，方强，2015. 基于 mtDNA-COI 基因序列分析我国中华按蚊种群的遗传结构. 南方医科大学学报，35(2)：234－238］

Chen YT，Zhang YK，Du WX，Jin PY，Hong XY，2016. Geography has a greater effect than *Wolbachia* infection on population genetic structure in the spider mite，*Tetranychus pueraricola*. *Bull. Entomol. Res*., 106(5)：685.

Dean MD，Ballard KJ，Glass A，Ballard JWO，2003. Influence of two *Wolbachia* strains on population structure of East African *Drosophila simulans*. *Genetics*，165(4)：1959.

Du EX，Guo JW，Zhao HY，2006. UV-induced DNA mutation of peah aphid. *Chin. J. Appl. Ecol*., 17(7)：1245－1249.［都二霞，郭剑文，赵惠燕，2006. 紫外辐射诱导桃蚜 DNA 变异. 应用生态学报，17(7)：1245－1249］

Gomi K，Gotoh T，Noda H，1997. Wolbachia having no effect on reproductive incompatibility in *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari：Tetranychidae). *Appl. Entomol. Zool*., 32(3)：485－490.

Gorman K，Hewitt F，Denholm I，Devine GJ，2002. New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. *Pest Manag. Sci*., 58 (2)：123－130.

Gray MW，1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Cell Biol*., 5(5)：25－50.

Hebert PDN，Cywinska A，Ball SL，deWaard JR，2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Biol. Sci*., 270 (1512)：313－321.

Hinomoto N，Osakabe M，Gotoh T，Takafuji A，2001. Phylogenetic analysis of green and red forms of the two-spotted spider mite，*Tetranychus urticae* Koch (Acari：Tetranychidae)，in Japan，based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequences. *Appl. Entomol. Zool*., 36(4)：459－464.

Hong XY，2012. Agricultural Acarology. China Agriculture Press，Beijing.［洪晓月，2012. 农业螨类学. 北京：中国农业出版社］

Hong XY，Xue XF，Wang JJ，Dong W，Zhang YX，Chen HJ，Zhang JY，Qiu GS，Hu JH，Wang SL，Yu LC，Shen HM，Sun RH，Guo JJ，Wu WN，Guo MF，Zhang JP，Chen BX，Song ZW，Gui LY，2013. Integrated control techniques for spider mites on important crops. *Chin. J. Appl. Entomol*., 50(2)：321－328.［洪晓月，薛晓峰，王进军，豆威，张艳璇，陈汉杰，张金勇，仇贵生，胡军华，王少丽，于丽辰，沈慧敏，孙瑞红，郭建军，吴伟南，郭明昉，张建萍，陈炳旭，宋子伟，桂连友，2013. 作物重要叶螨综合防控技术研究与示范推广. 应用昆虫学报，50(2)：321－328］

Hurst GDD，Jiggins FM，2005. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population，phylogeographic and phylogenetic studies：the effects of inherited symbionts. *Proc. Biol. Sci*., 272 (1572)：1525－1534.

Jiggins FM，2003. Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial DNA：selective sweeps，hybrid introgression and parasite population dynamics. *Genetics*，164(1)：5－12.

Li GQ，2010. DNA Barcoding and Molecular Phylogeny of the Spider Mites in China (Acari：Tetranychidae). MSc Thesis，Nanjing Agricultural University，Nanjing.［李国庆，2010. 中国叶螨 DNA 条形码的研究及其系统发育分析. 南京：南京农业大学硕士学位论文］

Moritz C，Dowling TE，Brown WM，2003. Evolution of animal mitochondrial DNA：relevance for population biology and systematics. *Annu. Rev. Ecol. System*., 18(1)：269－292.

National Agricultural Technology Promotion Service Center，2014. The Research on The Important Pest Management Strategies of Crops. China Agriculture Press，Beijing. 174－182.［全国农业技术推广服务中心，2014. 农作物重大有害生物治理对策研究. 北京：

中国农业出版社. 174 – 182]

Navajas M, Gutierrez J, Lagnel J, 1996. Mitochondrial cytochrome oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and changes of morphological and life history traits. *Bull. Entomol. Res.*, 86(4): 407 – 417.

Navajas M, Gutierrez J, Lagnel J, Fauvel G, Gotoh T, 1999. DNA sequences and cross-breeding experiments in the hawthorn spider mite *Amphitetranychus viennensis* reveal high genetic differentiation between Japanese and French populations. *Entomol. Exp. Appl.*, 90(2): 113 – 122.

Ros VID, Breeuwer JAJ, 2007. Spider mite (Acari: Tetranychidae) mitochondrial COI phylogeny reviewed: host plant relationships, phylogeography, reproductive parasites and barcoding. *Exp. Appl. Acarol.*, 42(4): 239 – 262.

Skibinski DO, Gallagher C, Beynon CM, 1994. Mitochondrial DNA inheritance. *Nature*, 368(6474): 817 – 818.

Toda S, Osakabe M, Komazaki S, 2000. Interspecific diversity of mitochondrial COI sequences in Japanese *Panonychus* species (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 24(10): 821 – 829.

Wang HL, Wang RY, Zhang Q, Liu DX, Pu JY, 2012. Main crops structural change and its climate background in gansu province during the past two decades. *J. Nat. Resour.*, 27(3): 413 – 421. [王鹤龄, 王润元, 张强, 刘德祥, 蒲金涌, 2012. 甘肃省作物布局演变及其对区域气候变暖的响应. 自然资源学报, 27(3): 413 – 421]

Wang L, Zhang YJ, Wu QJ, Xie W, Liu YC, Wang SL, 2016. Control effects of garlic intercropping on spider mite *Tetranychus tnuncatus* on eggplants. *J. Plant Prot.*, 43(6): 995 – 1000. [王玲, 张友军, 吴青君, 谢文, 刘贻聪, 王少丽, 2016. 间作大蒜对茄子截形叶螨的防控效果. 植物保护学报, 43(6): 995 – 1000]

Wu L, 2010. The Influences of Environmental Stress on Adult *Locusta migratoria tibetensis*' s Food Consumption, Growth and Antioxidant Enzymes. Msc Thesis, Sichuan Agricultural University, Chengdu. [吴蕾, 2010. 环境胁迫对西藏飞蝗成虫取食生氏和抗氧化酶系统的影响. 成都: 四川农业大学硕士学位论文]

Xie L, 2006. Molecular Genetic Structures of Populations in *Tetranychus urticae* Koch and *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae) from China. MSc Thesis, Nanjing Agricultural University, Nanjing. [谢霖, 2006. 中国二斑叶螨和朱砂叶螨种群分子遗传结构的研究. 南京: 南京农业大学硕士学位论文]

Xu JX, Yang HY, Wu JC, 2006. Effects of elevated solar UV-B radiation on herbivorous insects. *Chin. J. Ecol.*, 25(7): 845 – 850. [徐建祥, 杨海燕, 吴进才, 2006. 紫外 B 辐射增强对植食性昆虫的影响. 生态学杂志, 25(7): 845 – 850]

Yang QQ, Li ZH, Wu W, Liu LJ, 2012. Advance and application of mtDNA COI barcodes on insects. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 49(6): 1687 – 1695. [杨倩倩, 李志红, 伍祎, 柳丽君, 2012. 线粒体 COI 基因在昆虫 DNA 条形码中的研究与应用. 应用昆虫学报, 49(6): 1687 – 1695]

Zhang YK, Ding XL, Zhang KJ, Hong XY, 2013. *Wolbachia* play an important role in affecting mtDNA variation of *Tetranychus truncatus* (Trombidiformes: Tetranychidae). *Environ. Entomol.*, 42(6): 1240 – 1245.

Zhang YK, 2014. *Wolbachia* Infection Characters and Their Effect on Host Reproduction, Population Genetics and Gene Expression in the Spider Mites. PhD Dissertation, Nanjing Agricultural University, Nanjing. [张艳凯, 2014. 叶螨中 *Wolbahia* 感染特性及其对宿主生殖、种群遗传和基因表达的影响. 南京: 南京农业大学博士学位论文]

Zheng KF, Shen HM, Zhang XH, 2013. Predation of *Euseius finlandicus* on *Tetranychus truncates*. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 50(2): 401 – 405. [郑开福, 沈慧敏, 张新虎, 2013. 芬兰真绥螨对截形叶螨的捕食功能研究. 应用昆虫学报, 50(2): 401 – 405]

(责任编辑: 马丽萍)